

白木香中芒果苷的时空变化规律研究

帅 欧¹, 林 励¹, 汪 科 元², 林 芳 花³

(1. 广州中医药大学 中药学院, 广东 广州 510006; 2. 电白县南药药业有限公司, 广东 茂名 525423; 3. 广东惠州学院, 广东 惠州 516000)

摘 要:以白木香为试材, 分析比较了白木香植株不同部位的芒果苷含量, 研究了不同产地、不同树龄、不同采收期、不同储存期白木香叶中芒果苷含量动态变化规律, 以为白木香资源的合理开发利用提供依据。结果表明: 白木香叶、初生枝皮木、花、绿果皮中均含有芒果苷, 且初生叶、初生枝皮、花中含量均超过 4.5%; 产地、树龄对白木香叶中芒果苷含量的影响无明显规律; 不同采收期内白木香叶中芒果苷含量差异明显, 可根据具体需要确定 3 月或 9 月为适宜采收期; 储存 1 a 的 3 批白木香叶芒果苷含量变化值均 $\leq 0.26\%$, 基本稳定。

关键词:白木香; 芒果苷; 时空变化; 采收期; 储存期

中图分类号:S 791. 243. 04 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)23-0162-04

白木香(*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg) 属瑞香科沉香属植物, 主产于我国广东、海南、广西、云南、台湾等省区, 是生产国产沉香的唯一资源, 是著名的“十大广药”之一, 为我国特有的珍贵濒危药用植物, 已被列为国家珍稀濒危三级保护植物及国家二级重点保护野生植物, 并被载入《中国植物红皮书》。近年来在各级政府号召下, 白木香在南方各省人工栽培面积达 3 万 hm^2 , 由于白木香仅以含有黑色树脂的木质部入药, 其自然结香时

间较长且产量较低, 产生经济效益的周期较长, 业内学者开始对白木香非药用部位进行综合利用开发研究。已有研究发现, 白木香叶、花等部位含有黄酮及苷类、多糖、氨基酸、酚类等各种化学成分^[1-7], 具有抗炎镇痛、抗肿瘤、抗氧化、降血脂、降血糖等多种药理活性^[8-13], 民间常将其鲜叶、花直接泡茶饮用, 部分大型种植企业已开发出保健茶进行销售, 且其种植规模大、产量高、资源丰富, 深度开发成保健功能食品的前景十分可观。目前鲜有白木香资源中有效成分的动态变化规律研究报道, 因此现对白木香植株不同部位的芒果苷含量及不同产地、树龄、采收期、储存期白木香叶中芒果苷含量动态变化规律进行分析研究, 以为白木香资源的综合开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

白木香各样品采集于广州中医药大学药王山、电白

第一作者简介:帅欧(1986-), 男, 博士研究生, 研究方向为中药资源开发利用与新药研究。E-mail: 531634521@qq.com.

责任作者:林励(1954-), 男, 研究员, 博士生导师, 现主要从事中药资源开发利用与新药研究工作。E-mail: LL76611@126.com.

基金项目:国家高技术产业发展计划资助项目(发改办高技[2011]51号); 惠州市科技计划资助项目(2010B02001005); 广东省大学生创新实验资助项目(1057212006)。

收稿日期:2013-07-26

35℃以下在无菌条件下将母种挑取蚕豆大小接入小麦培养基中, 在 25~28℃条件下培养 20 d 左右即可长满。

2.4.4 生产原料的接种 生产原料经灭菌后, 在无菌条件下将生产种接 10 g 左右均匀的分散于表面, 接种后封好袋口。

2.5 发菌管理

接种后放在大棚内码堆 5~6 层, 环境温度保持在 20~29℃, 经常保持通风换气, 隔 1 星期左右进行翻堆, 防止温度过高烧堆。

2.6 出菇管理

2.6.1 出菇管理 当菌丝长满料袋后可以开袋保湿出菇, 菌柄是其主要食用部分, 杏鲍菇的菌柄口感比较脆

嫩, 因此要形成膨大的菌柄就需要出菇房保持较弱的光线控制菌盖的生长。出菇温度保持在 10~15℃。出菇时要使单个菇体长的比较大就要对每丛菇去除, 留 1~2 个单体菇, 当菌盖快要全部展平时就可进行采收。

2.6.2 出菇后管理 杏鲍菇接种到第 1 潮菇采收, 一般需 55~60 d。子实体单生或丛生, 初期圆形, 成熟时菇柄粗长, 上下略小, 中部肥肿; 菇盖平展或中间略浮或上凹, 表面稍有绒毛。采收时手握菌柄, 整朵拔起。采收清理料面残留及环境, 停止喷水, 生息养菌 5~7 d 后, 继续喷水、控温、通风, 促使再生第 2 潮菇。若杏鲍菇管理得当, 则其生物学效率可达 100%, 每袋一般 1 次长 2~3 朵或 1 丛菇; 单朵重量 50~80 g, 最重可达 250 g。

沉香基地、恩平沉香基地、湛江南药基地,经广州中医药大学中药学院林励研究员鉴定,均为瑞香科植物白木香 *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg。芒果苷对照品(批号:111607-200301)购自中国生物样品检定所,纯度 $\geq 98\%$;乙腈为色谱纯,水为重蒸水,其余试剂为分析纯。ACQUITY UPLC(美国 Waters 公司,包括四元高压梯度泵、真空脱气机、自动进样器、柱温箱、二极管阵列检测器、Empower2 色谱工作站);ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(2.1 mm \times 50 mm,1.7 μ m)。BP211D Sartorius 型分析天平(德国赛多利斯,d=0.0001 g);XT220A Precisa 型分析天平(瑞士普利赛斯,d=0.00001 g);DFY-200 型粉碎机(浙江温岭市大德中药机械有限公司);KQ-500 型超声波清洗器(40 kHz,500 W,江苏省昆山市超声仪器有限公司);6DHG-90553A 型电热鼓风干燥箱(上海精密实验设备有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 样品的采集、存储与前处理 选择 5 株南向大枝上小分枝较多并且疏密、大小均匀的白木香树,于 2011 年 1~12 月,每月 15 日于同一株树的同一南向大枝上采取一小分枝叶,60℃烘干,打粉过 2 号药筛,备用。将采摘自不同产地的白木香叶按产地分为 3 批,每批 1.0 kg,分别在 60℃的烘箱中烘干过夜后先装入封口袋,再密封存储于棕色干燥器中。每月 15 日从 3 批样品中分别取出 50 g,打粉过 2 号药筛,备用。白木香其它样品采集按照一般取样原则进行,注意均一性和代表性,打粉过 2 号药筛,备用。

1.2.2 对照品储备液的制备 取 P_2O_5 减压干燥至恒重的芒果苷对照品适量,精密称定,以 70%甲醇制成每 1.0 mL 含芒果苷 0.1720 mg 的对照品储备液。

1.2.3 供试品溶液的制备 取沉香叶粉末约 0.10 g,精密称定,置于 100 mL 三角锥形瓶中,加入 100 mL 70%甲醇溶液,称定重量,放置 30 min,超声提取 60 min,放冷,称重,用 70%甲醇补重,摇匀,过 0.22 μ m 微孔滤膜,取续滤液,即得。

1.2.4 色谱条件与系统适用性 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂;以乙腈为 A 相,以 0.1%乙酸水为 B 相,8:92 等度洗脱。柱温 35℃;检测波长 258 nm,流速 0.3 mL/min,进样量 1 μ L。理论塔板数按芒果苷色谱峰计算不低于 10 000。对照品溶液和供试品溶液色谱图见图 1。

1.2.5 线性关系考察 分别精密吸取对照品储备溶液 0.2、1.0、2.0、4.0、6.0 mL 置 10 mL 量瓶中,70%甲醇定容至刻度,摇匀,得到一系列浓度分别为 3.44、17.20、34.40、68.80、103.20、172.00 μ g/mL 的对照品溶液,按 1.2.4 项下色谱条件,分别精密吸取 1.0 μ L 注入液相色谱仪,以进样量(ng)为横坐标,峰面积为纵坐标,进行线

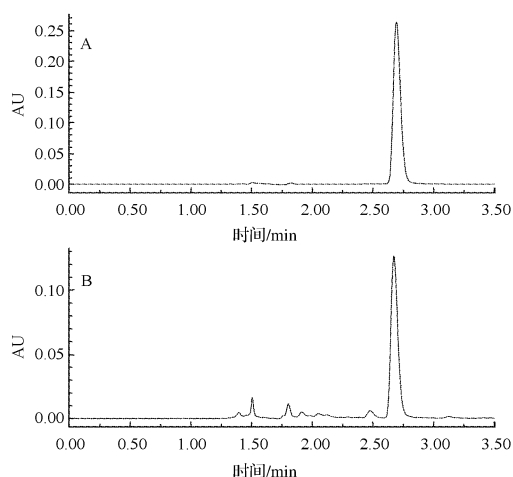


图 1 芒果苷对照品及供试品溶液 UPLC 色谱图

Fig. 1 UPLC chromatograms of mangiferin standard(A) and sample solution(B)

性回归,得回归方程 $Y = 15\ 819.3263X + 16\ 717.5036$ ($r = 0.9999$),表明芒果苷在进样量 3.44~172.00 ng 范围内呈良好的线性关系。

1.2.6 精密性试验 精密吸取线性关系考察项下浓度为 34.40 μ g/mL 的对照品溶液 1.0 μ L 注入液相色谱仪,连续 6 次,计算芒果苷峰面积的 RSD 值,结果表明 6 次进样所得峰面积 RSD 值为 0.36%,说明仪器精密性良好。

1.2.7 稳定性试验 取同一份供试品溶液,在 0、2、6、12、24、48 h 分别精密吸取 1.0 μ L 进样进行测定。结果 RSD 为 0.49%,表明供试品溶液在 48 h 内稳定。

1.2.8 重复性试验 取同一样品(药王山)6 份,精密称定,按 1.2.3 项下操作,在上述色谱条件下,各精密吸取 1.0 μ L 进样,测得芒果苷的平均含量为 4.34%,RSD 值为 0.89%,表明方法重复性良好。

1.2.9 加样回收试验 取同一批已知芒果苷含量的(药王山)药材粉末约 0.05 g,精密称定,共 9 份,分别按 80%、100%、120%加入已知含量的芒果苷对照品溶液,各 3 份,按 1.2.3 项下方法操作,精密吸取 1.0 μ L 注入液相色谱仪,计算芒果苷的回收率及 RSD。结果如表 1 所示,芒果

表 1 白木香叶中芒果苷加样回收率试验

Table 1 Sample-added recovery test of mangiferin the leaves of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg

取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.0501	2.17434	1.72000	3.87431	98.83547		
0.0498	2.16132	1.72000	3.85754	98.61744	98.38	0.63
0.0502	2.17868	1.72000	3.85864	97.67209		
0.0505	2.19170	2.15000	4.30146	98.12837		
0.0503	2.18302	2.15000	4.31325	99.08047	98.53	0.50
0.0504	2.18736	2.15000	4.30269	98.38744		
0.0501	2.17434	2.58000	4.71625	98.52364		
0.0497	2.15698	2.58000	4.69952	98.54806	98.29	0.45
0.0498	2.16132	2.58000	4.68361	97.76318		

昔的9个加样回收率均在97.67%~99.08%范围内,高、中、低3组均值为98.38%、98.53%、98.29%,RSD为0.63%、0.50%、0.45%,表明方法的回收率良好,准确度较高,方法可行。

2 结果与分析

2.1 白木香植株不同部位芒果苷含量比较

由表2可知,白木香初生叶、老叶、初生枝皮、初生枝木、花、绿果皮均含有芒果苷,且以干燥品计,初生叶、初生枝皮、花中芒果苷含量达到了4.5%以上,说明芒果苷主要集中在分布于白木香幼嫩部位。

表2 白木香不同部位芒果苷的含量

Table 2 The content of mangiferin in different parts of

Aquilaria sinensis (Lour.) Gilg

部位	芒果苷含量/%	部位	芒果苷含量/%	部位	芒果苷含量/%
初生叶	5.12	花	4.54	树皮	0
老叶	2.96	绿果皮	1.23	老枝木	0
初生枝皮	4.81	种子	0	主干	0
初生枝木	2.13	老枝皮	0		

2.2 不同采集地白木香叶中芒果苷含量比较

由表3可知,采集地对白木香叶中芒果苷含量影响无明显规律,可能是由于广东省范围内受日照时间、光照强度差异不大造成,广州中医药大学药王山所采集的白木香叶的芒果苷含量最高,可能与其经常施肥及植株较分散、光照较好有关。

表3 不同采收地白木香叶中芒果苷含量比较

Table 3 Comparison on the content of mangiferin in the leaves of

Aquilaria sinensis (Lour.) Gilg from different places

来源	批号	芒果苷含量/%
恩平沉香基地	20100910	3.73
湛江南药基地	20100914	3.86
电白君元沉香基地	20100924	3.43
广州中医药大学药王山	20100918	4.34

2.3 不同树龄白木香叶中芒果苷含量比较

由表4可知,树龄对白木香叶中芒果苷含量影响无明显规律,可能是由于白木香为常绿植物,叶年更新率较低,而同一采集地接受光照时间、强度较统一造成。

表4 不同树龄白木香叶中芒果苷的含量比较

Table 4 Comparison on the content of mangiferin in the leaves of

Aquilaria sinensis (Lour.) Gilg of different age

树龄/a	芒果苷含量/%	树龄/a	芒果苷含量/%	树龄/a	芒果苷含量/%
2	4.06	5	3.73	8	3.75
3	3.89	6	3.79	9	3.81
4	3.96	7	3.64	10	3.77

2.4 不同采收期白木香叶中芒果苷含量比较

由表5可知,采收期对白木香叶中芒果苷含量影响较规律,含量呈双峰分布,高峰基本集中在2~4月和8~10月,尤其是3月和9月。分析其原因可能是由于白木香在2~4月处于生长旺盛期,正值吐芽发叶抽枝时期,新生叶较多,叶新陈代谢旺盛,芒果苷合成

较多;5~7月为果期,养分集中优先供应果实,叶中芒果苷合成降低;8~10月果熟后,养分输送减少,光照强度、光照时间均较适宜,叶片发育成熟,加大了芒果苷的合成;11月至次年1月气温、日照均下降,植物机体开始冬储,养分开始流向主干和根部,叶片活动降低,芒果苷合成减少。

表5 不同采收期沉香叶中芒果苷的含量比较

Table 5 Comparison on the content of mangiferin in the leaves of

Aquilaria sinensis (Lour.) Gilg at different harvest mouths

月份/月	树1	树2	树3	树4	树5
1	3.16	2.73	2.55	2.93	2.31
2	4.34	4.01	3.81	3.97	2.73
3	5.27	4.74	4.34	3.95	3.54
4	4.83	4.34	4.45	3.83	3.46
5	4.45	4.02	4.21	3.61	3.48
6	4.13	3.71	3.52	3.39	3.24
7	4.26	3.73	3.33	3.47	3.03
8	4.48	4.06	3.76	3.58	3.11
9	4.61	4.15	3.84	3.71	3.26
10	4.25	3.83	3.51	3.42	3.13
11	3.82	3.44	3.31	3.26	2.98
12	3.47	3.11	2.86	2.73	2.44

2.5 不同存储期白木香叶中芒果苷含量比较

由表6可知,在适当条件下储存1a的3批白木香叶,芒果苷含量下降率均 $\leq 0.26\%$,芒果苷含量基本保持稳定。

表6 不同存储期沉香叶中芒果苷的含量比较

Table 6 Comparison on the content of mangiferin in the leaves of

Aquilaria sinensis (Lour.) Gilg at storage period

储存月份/月	药王山	电白	恩平
1	4.34	3.43	3.76
2	4.35	3.41	3.74
3	4.33	3.38	3.74
4	4.31	3.39	3.73
5	4.31	3.34	3.69
6	4.29	3.31	3.63
7	4.27	3.26	3.64
8	4.25	3.25	3.62
9	4.21	3.23	3.62
10	4.18	3.22	3.58
11	4.14	3.19	3.55
12	4.12	3.17	3.51

3 结论与讨论

作为传统名贵中药材之一的沉香药材形成周期长,极其稀少名贵,但结香要求的基础树龄在7a以上,且结香率极低、难度也非常大。这7a期间种植基地无任何收入,严重影响了大多数基地的生存和资金再投入,种植风险很大。为拓展白木香新的药用资源,增加种植基地建设生存和再投入能力,对沉香原植物白木香其它部位进行研究和深入开发对充分挖掘白木香资源具有非常重

要的意义。白木香叶药材资源非常丰富,且具有分布地域广,原料易得,价格低廉,甚至四季可采等优点,开发难度低、周期短,弄清白木香成分的时空分布规律对其深度开发利用十分必要。

该试验测定结果表明,白木香叶、初生枝皮木、花、绿果皮中均含有芒果苷,且初生叶、初生枝皮、花中含量均超过 4.5%;广东省内不同生长地白木香叶中芒果苷含量略有差异,但不显著;白木香树龄与叶中芒果苷含量无相关性。以上提示广东地区的白木香叶均可作为提取芒果苷和制备高级保健茶叶的优质原料,实际生产时可直接折取带花蕾、叶、嫩果实的新枝,无需单独摘叶或者花费大量时间去除嫩枝、花、果实等部位,采收十分方便且不浪费。

中药材有效成分的形成与积累除了受遗传因子的调控和环境条件影响外,还受采收、贮藏、加工等影响。其中,采收是影响中药材产量和质量的重要的环节之一。适当的采收期对药材的产量、品质和收获效率都有重要作用,对中药材生药的质量保障也有重要的意义。不同采收期沉香叶中芒果苷成分在含量上有较大的差异,其中沉香叶中芒果苷的含量在 1、12 月含量较低,3、9 月含量较高。与叶类药材传统最佳采收期 7、8 月份含量较高稍有相悖,可能与其正处于果期有关。芒果苷含量最高的叶片是 3 月份的新叶,但是由于叶片重不大,相对提取的效益不佳;9 月份的含量稍低,但是叶片片重比新叶大,总量上芒果苷含量最多;因此,沉香叶的采收,应根据具体需要进行,制茶采收 3 月叶、提取原料采收 9 月叶最佳。

适宜条件下储存 1 a 的白木香叶芒果苷含量变化值均 $\leq 0.26\%$,基本保持稳定,说明此品较耐贮藏,利于资源开发利用。

参考文献

- [1] 冯洁,杨秀伟.白木香叶化学成分的研究[J].中国中药杂志,2012,37(2):230-234.
- [2] 冯洁,杨秀伟.白木香叶脂溶性化学成分研究[J].中国中药杂志,2011,36(15):2092-2095.
- [3] 聂春晓,宋月林,陈东,等.白木香叶化学成分的研究[J].中国中药杂志,2009,34(7):858-860.
- [4] 聂春晓.白木香叶化学成分的研究[D].呼和浩特:内蒙古医学院,2009.
- [5] 张雪梅,李力承,邓李安.云南产白木香叶化学成分初探[J].中外健康文摘,2009,6(24):266-267.
- [6] 路晶晶,戚进,朱丹妮,等.白木香叶中黄酮类成分结构与抗氧化功能的相关性研究[J].中国天然药物,2008,6(6):456-460.
- [7] 王红刚,周敏华,路晶晶,等.沉香叶抗肿瘤活性化学成分研究[J].林产化学与工业,2008,28(2):1-5.
- [8] 林焕泽,李红念,梅全喜.沉香叶与沉香药材抗炎作用的对比研究[J].中华中医药学刊,2013,31(3):548-549.
- [9] 李红念,梅全喜,林焕泽,等.沉香叶与沉香药材镇痛作用的对比研究[J].时珍国医国药,2012,23(8):1958-1959.
- [10] 杨懋勋,毛双双,陈河如.白木香叶不同提取部位对 NO_2^- 的清除作用研究[J].北华大学学报(自然科学版),2012,13(4):406-409.
- [11] 林芳花,彭永宏,柯菲菲,等.沉香叶鞣质含量测定及抗氧化、延缓衰老作用的研究[J].广东药学院学报,2012,28(3):259-262.
- [12] 姜珊,姜勇,管又飞,等.白木香叶 95%乙醇提取物在 db/db 糖尿病小鼠上的降糖作用(英文)[J].Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences,2011,20(6):609-614.
- [13] 林芳花,彭永宏,江顺,等.沉香叶提取工艺及其抗氧化活性实验研究[J].中国野生植物资源,2011,30(4):35-40.

Study on Temporal and Spatial Variation Regularity of Mangiferin in *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg

SHUAI Ou¹, LIN Li¹, WANG Ke-yuan², LIN Fang-hua³

(1. College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006; 2. Dianbai South Pharmaceutical Company, Maoming, Guangdong 525423; 3. Guangdong Huizhou University, Huizhou, Guangdong 516000)

Abstract: Taking *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg as test material, the content of mangiferin in different parts of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg were determined, and the content of mangiferin in the leaves of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg from different places, of different age, in different harvesting and storage period were studied, in order to provide the basis for rational exploitation. The results showed that the mangiferin was distributed in the leaves, the newborn branch bark and sticks of wood, flowers, and the green peel. The content of mangiferin in the newborn leaves, newborn branch bark, flowers were greater than 4.5%. The effects of different places and age had no regular on mangiferin content. It could identify March or September for the harvest time according to specific needs. The change values with the content of mangiferin in 3 batches leaves of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg for storage 1 year were less than 0.26%, basically stable.

Key words: *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg; mangiferin; temporal and spatial variation regularity; harvesting period; storage time